**PRACTICA #5**

**BIOLOGIA CELULAR VETERINARIA**

**SOLUCIONES HIPERTONICAS E HIPOTONICAS**

**OBJETIVO:**

Observar el efecto de las soluciones con diferente concentración de soluto en células sanguíneas.

**FUNDAMENTO:**

Todas las células están limitadas por una membrana plasmática que separa el medio interno celular del medio externo extracelular; la presencia de esta membrana permite a las células conservar un ambiente adecuado para efectuar sus diversas reacciones metabólicas.

Debido a su estructura y composición química presentan varios tipos de transporte adquiriendo una permeabilidad selectiva, esto significa que no todos los materiales pueden entrar o salir de la célula libremente, son aquellos que reúnan ciertos requisitos de tamaño molecular, carga eléctrica y concentración podrán hacerlo.

El transporte de agua, llamado **osmosis** sigue un movimiento a favor del gradiente de concentración, trasladándose del sitio con mayor concentración de moléculas de agua hacia un lugar con menor concentración, por lo tanto, está regulado por la cantidad de **solutos** (material solido que puede disolverse en un solvente) que se encuentran presentes en el espacio extracelular y el citosol; de tal modo que si hay una cantidad mayor de solutos en el espacio extracelular (y por lo tanto una menor cantidad de moléculas de agua) que en el citosol (donde tendremos una mayor cantidad de moléculas de agua) se presentara un ambiente **hipertónico**, donde la célula perderá agua, reduciendo su volumen. En cambio, un ambiente **hipotónico** presenta una célula que gana gran cantidad de agua y aumenta su volumen, ya que hay una cantidad de soluto menor en el espacio extracelular (y por lo tanto, más moléculas de agua) que en el citosol y el agua se difunde hacia el interior de la celula.

**MATERIAL:**

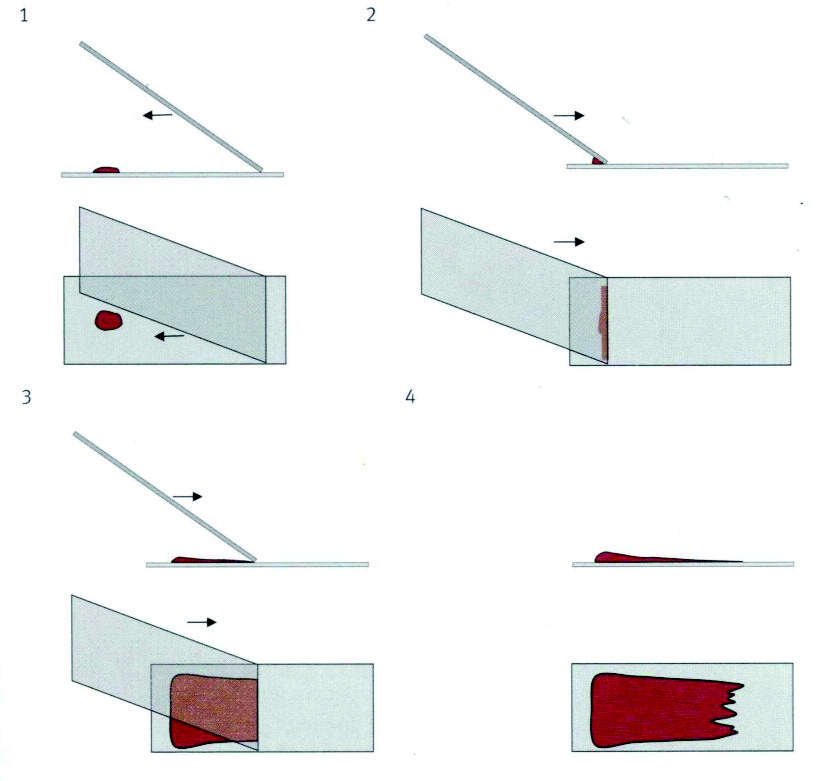
* Microscopio óptico
* Portaobjetos
* Cubreobjetos
* Lanzetas
* Solución hipertónica e hipotónica de NaCl
* Reactivos para tinción de Wright
* Alcohol

**MATERIAL BIOLOGICO:**

* Muestra de sangre fresca sin anticoagulante

**TÉCNICA:**

1. Utiliza una lanceta nueva y estéril y punza el dedo pulgar; coloca una gota de sangre en el extremo de un portaobjetos limpiado con anterioridad con alcohol.
2. Colocar encima de la gota de sangre, una gota pequeña de solución salina (un portaobjetos con una gota de sangre para cada una de las diferentes soluciones). Esperar 3 minutos.
3. Coloca el cubreobjetos (puede ser también otro portaobjetos) como se muestra en la figura 1 y deslízalo de manera rápida y sin detenerte por toda la superficie del portaobjetos, sin pasar por encima de la muestra, para obtener una película fina de sangre.
4. Dejar secar la preparación al aire.
5. Cubrir completamente el portaobjetos o cubreobjetos con el colorante de Wright gota a gota. Dejarlo que permanezca en el frotis aproximadamente de 5- 8 minutos, para fijar los glóbulos sanguíneos. El colorante deberá cubrir completamente el portaobjetos, pero no debe derramarse por los bordes. Deberá agregarse una cantidad adicional si éste se comienza a evaporar.
6. Agregar directamente al colorante un volumen igual de amortiguador de Wright, para evitar la coloración débil. Esperar la formación de brillo metálico. Puede usarse de igual manera agua desionizada. Dejar actuar de 10 -15 minutos.
7. Lavar con agua de una piseta cuidadosamente hasta que la extensión presente un aspecto rosado al examinarlo a simple vista.
8. Secar al aire y observar con el microscopio con el objetivo de inmersión.
9. Realizar un dibujo (o tomar una foto) de las diferentes laminillas y describir la condición de los eritrocitos.

Figura 1. Preparación del frotis sanguíneo.

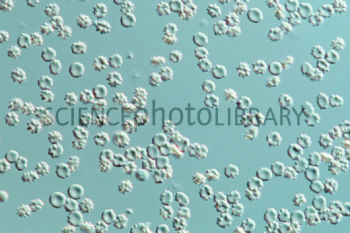


Figura 2. Eritrocitos en una solución hipertónica.



Figura 3. Eritrocitos en solución isotónica.

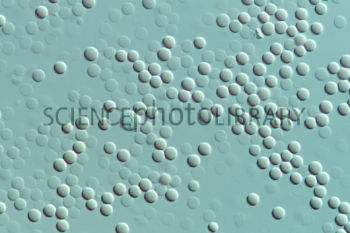


Figura 4. Eritrocitos en solución hipotónica.

**PREGUNTAS**

1. Si una muestra de sangre de un paciente presenta eritrocitos que están perdiendo su volumen ¿Qué condición clínica o enfermedad podría explicar dicha situación?
2. Describe en qué casos se administran las soluciones hipertónicas, isotónicas e hipotónicas en un paciente.
3. Describe que aplicaciones clínicas tiene la Tinción de Wright.